Prof. B. GOSIO
Direttore dei Laboratori microbiologici della Sanità Pubblica

La reazione fenolica del granoturco

in rapporto coi suoi parassiti vegetali

UDINE
TIPOGRAFIA DOMENICO DEL BIANCO
1906

Prof. B. GOSIO
Direttore dei Laboratori microbiologici della Sanità Pubblica

La reazione fenolica del granoturco

in rapporto coi suoi parassiti vegetali

UDINE
TIPOGRAFIA DOMENICO DEL BIANCO
1906

Sulla reazione fenolica del mais guasto e degli estratti ifomicetici in genere si è scritto molto in questi ultimi tempi ed in vario senso. Non è quindi fuor di luogo il dedicarvi uno speciale articolo, tanto più che detta reazione è contemplata in istruzioni regolamentari concernenti il giudizio igienico sul mais del commercio.

Allorchè mi occupavo dello studio biologico del penicillo verde, il più comune parassita del mais e dei suoi prodotti, risultò nella maniera più palese, che i succhi di questo ifomiceta contengono una sostanza cristallizzabile. É un composto che malgrado molte difficoltà, potè purificarsi tanto dalle culture in liquido Raulin come dal mais spontaneamente infetto: si potè così analizzare ed oggi se ne conosce anche la formula costitutiva grezza. Non intendo qui diffondermi sulle proprietà fisico-chimiche altrove già trattate e discusse fin dove fu possibile; accennerò soltanto alla reazione più specialmente presa di mira per la sua pratica applicabilità: la reazione al cloruro ferrico. Il reattivo ferrico, a contatto della sostanza in soluto

neutro, produce marcatissime tinte colorate variabili dal bleu al verde, fino al rosso violaceo. Certo in siffatta fenomenologia ha molta importanza la quantità del prodotto messo a reagire: così da minime traccie si ha il verde cupo; da soluti più ricchi si ha il bleu intenso od il violaceo carico, tutto anche in rapporto colla dose di reattivo che s'impiega. Ma siccome questi diversi colori possono osservarsi anche successivamente per un unico contatto del reattivo medesimo, è forza ammettere o la facile decomponibilità del prodotto di fronte ad un mezzo ossidante o la presenza simultanea di vari composti, che, pur riproducendo sostanzialmente lo stesso tipo, variano in qualche dettaglio della loro struttura molecolare.

Orbene, tre sono le questioni fondamentali che si presentano rispetto a simili prodotti fenolici:

1° Che parte essi abbiano nella tossicità del mais invaso da ifomiceti;

2° Che cosa rappresentino essi specificamente in rapporto alla genesi della pellagra;

3° Il loro significato generico, quali indici di alterazione del mais.

In merito al primo punto è anzitutto indiscutibile una tossicità dei prodotti isolati dalle culture di penicillo glauco: lo dice il loro potere antisettico e lo dice la fenomenologia, che si riuscì ad ottenere sull'organisimo vivo. Queste ultime prove non si poterono estendere al di

là dei piccoli animali (topolini, passeri) e di più, per la stessa ragione e per la difficile solubilità, dovettero farsi in condizioni aggravanti: si ricorse al contatto diretto coi punti elettivi dell'azione specifica (innesti intracranici). Ad ogni modo la tipica sintomatologia ottenuta e la garanzia fornita da numerose prove di controllo, per quanto concerne l'attendibilità dei risultati, non lasciano dubbio sul carattere tossico dei suddetti composti: essi agiscono analogamente agli altri della serie (tipo acido salicilico). Illustrerò meglio questo punto quando vi ritornerò di proposito coi contributi speciali miei e dei miei collaboratori. Al riguardo restano però aperti alcuni quesiti della massima importanza scientifica: è da attribuirsi per intero a questi prodotti la tossicità degli estratti penicillari? o, non piuttosto, devono essi intendersi come un esponente della tossicità medesima?

Nel primo caso, non dovrebbero gli estratti contenere corpi organici di nuova formazione; tutt'al più è ammissibile una ristretta variabilità strutturale, a cui potrebbero corrispondere i diversi toni della reazione colorata al percloruro.

In base ad essa io non esclusi come dei passaggi a scala, a cui potrebbero anche corrispondere varî poteri tossici; un'idea non inverosimile, in quanto si conoscono molte sostanze congeneri ad altre nella composizione

grezza od anche nel nucleo fondamentale, ma di comportamento fisiologico affatto disparato solo per la varia sede dei gruppi secondarî.

Basta pensare alle disparità dei tre fenoli della formola $C^6 H^4 (OH)^2$; alla varia azione del pirogallolo, floroglucina ed ossi-idrochinone, corrispondenti tutti e tre alla formola $C^6 H^3 (OH)^3$; alla varia efficacia della cupreina di fronte alla chinina, ecc. E non è neppure da escludersi che, nei passaggi molecolari, effetto dell'energia trasformatrice del fungo vegetante, così come si modifica, si vada anche perdendo, in certi casi, la proprietà di dare le note tinte coi sali ferrici. Consimili fenomeni in chimica organica sono molto ovvî.

Ma, se non più probabile, certo più suggestiva è l'altra idea di nuovi composti più energici nella loro azione, che non gli stipiti da cui derivano. Questi composti possono stare coi fenoli sopramenzionati in vario rapporto: o può trattarsi di derivati molto semplici, per introduzione di gruppi molecolari comuni, alla stessa maniera che la relativamente innocua amigdalina, idratandosi, produce il velenosissimo acido prussico; oppure i fenoli fanno legame con altri corpi, quasi a costituire sali o più propriamente, eteri. Quest'ultima probabilità è la più sostenibile, sia per quello che risulta dalle collaterali ricerche sulla fisiologia d'altri vegetali, sia perchè permette di spiegare molti fatti stabiliti nello studio del tossico penicillare, sopratutto

l'azione cumulativa od almeno il contrasto col carattere delle comuni tossine, contro cui in genere sogliono riuscire i processi immunizzatori.

Sotto questo punto di vista propendo anch'io per l'idea di Di Pietro, cioè che qui si tratti di un avvelenamento glucosidico. Senza dubbio, a rigore di termini, il conchiudere in tal senso è per ora prematuro: occorre un più profondo stadio chimico, fatto da persona versata in analisi organica; noi fino ad oggi possiamo solo dire d'aver stabilito indirizzi orientativi e disposto per un terreno favorevole ad ulteriori più precise ricerche. Senza dubbio però l'ipotesi, che ha una base, spiega a meraviglia e la sintomatologia tossicologica e la mancanza o deficienza di mitridatismo per parte degli animali, e il vario rendimento del tossico nei varî stadî dello sviluppo miceliare, ed infine, quel che più monta, il rapporto che deve esistere coi prodotti da me finora isolati allo stato di purezza e che apparterrebbero alla serie fenolica. Infatti per le teorie di Pfeffer e i recentissimi studî sperimentali di Weevers risulta ben nota la funzione dei glucosidi in botanica: essi, analogamente agli amidi, servono come sostanza di riserva; s'accumulano nei semi per consumarsi poi dai giovani germogli. Proprio lo stesso avviene dei veleni penicillari. Ora i glucosidi (es. salicina) altro non sono per solito che combinazioni di fenoli con idrati di carbonio; queste combinazioni poco diffusibili servono ad im-

magazzinare gli zuccheri nelle cellule; quando gli organi vegetativi ne hanno bisogno, consumano l'elemento zuccherino della molecola e rimettono così in libertà il fenolo, che serve ad ulteriori fissazioni di zucchero. Pei glucosidi della Salix purpurea e dell'Aesculus hyppocastanum questi fenomeni sono ben stabiliti (Weevers). Pel penicillium glaucum, senza dubbio risulta dalle mie ricerche ripetute, che il potere tossico d'una ben determinata quantità di spore si vede profondamente a scemare, se, *coeteris paribus,* si fa l'estratto sui giovani germogli ottenuti promuovendo la vegetazione delle spore stesse. Ed occorre poi attendere la rifruttificazione, per riscontrare un nuovo accumulo di tossico.

Poste così le cose, i noti fenoli, pur non perdendo il loro carattere tossicologico individuale, ne acquisterebbero un altro ben più importante, cioè di indice esplicativo del meccanismo di tossicità.

È poi quasi superfluo aggiungere che in tutto questo complesso metabolismo molecolare, si possono perdere o modificarsi a fondo talune proprietà chimiche e biologiche, il cui ripristino è attuabile soltanto con particolari artifici analitici. E fra queste proprietà è senza dubbio da annoverarsi quella delle reazioni colorate al percloruro di ferro. In fatto non in tutte le fasi vegetative nè in tutte le varietà degl ifomiceti, che pur rispondono alla legge, si riesce

al riguardo ad ottenere sempre gli stessi fenomeni. Ma ciò dal punto di vista scientifico ha ben poco valore; in ogni modo non dà certo alcun diritto a negare l'importanza dei gruppi fenolici nella genesi del tossico. Anche recentemente il Besta, pel solo fatto di non aver ottenuto reazioni colorate col cloruro ferrico negli estratti di *aspergillus fumigatus* conchiude che « *il tossico non è in rapporto con corpi fenolici* ». Un tale asserto avrebbe credito solo ove emanasse come corollario di profonde ricerche di analisi organica: il basarlo unicamente sull'assenza della reazione al percloruro significa esporlo ai più grossolani errori. Se questa reazione esiste, dice molto; ma se non esiste, il fatto negativo dice ben poco: troppi sono i composti fenolici, che non reagiscono col percloruro, e troppo facile risulta il passaggio di quelli che la danno ad altri, che non la danno più. Basta pensare all'acido salicilico di fronte alla salicina: e che direbbe il Besta del comportamento negativo del salolo, di fronte alle vivacissime reazioni dei suoi due componenti, l'acido salicilico e l' acido fenico?

Inoltre converrebbe anche ci dicesse con maggiori dettagli l'esatto metodo seguito. Non sempre il non trovare è indizio sicuro d'assenza della cosa cercata: molto dipende anche dal processo seguito; ed una circostanza che sembra insignificante può talora rendersi causa di un

esito negativo. Per citare uno dei tanti esempi a noi occorsi, gli estratti tenuti a lungo nell'alcool si modificano nella loro costituzione e perdono in tutto od in parte la proprietà di reagire coi sali ferrici, per riacquistarla solo a prezzo di trattamenti speciali e complessi, che riconducano la molecola al primitivo assetto. Ma con ciò non si può dire che la sostanza abbia perso il suo carattere fenolico.

Non parlo poi dei casi, in cui i giudizî contrari hanno un carattere pressochè gratuito. Testè il Ceni, in una memoria sull'*Aspergillus Varians*, viene fra l'altro a concludere, che «... *i tossici non hanno nessun rapporto coi composti fenolici*». Un corollario di questo genere lascierebbe supporre un sostegno sperimentale, se non rigoroso e di prim'ordine (chè sarebbe pretender troppo) almeno indiziario, tanto per salvare le apparenze. Orbene invano si cerca nel testo il benchè minimo accenno ad esperimenti, a prove, che rappresentino un suffragio qualsiasi ad un simile asserto [1].

Dalle nostre ricerche sull'*aspergillus varians* ed *aspergillus flavescens* risulta invece, che

(1) Nel testo si parla solo vagamente di incapacità ad elaborare prodotti fenolici in qualsiasi epoca dello sviluppo, senza alcun dato sperimentale, che permetta di spiegare la discrepanza fra i risultati dell'A. ed i nostri. — Il Ceni però, dietro nostra richiesta, ebbe la cortesia di fornirci la sua così detta «*nuova specie di asp. varians*» e quanto prima si pubblicherà l'esito delle nostre indagini, che rendono piena ragione della controversia.

questi ifomiceti producono in grande copia composti tipici nel modo di reagire col cloruro ferrico (intensissime tinte rosso violacee facili a prodursi anche nel substrato al di sotto delle patine vegetative). Io non seguirò l'assolutismo del Ceni benchè ne avrei maggior diritto sperimentale, col dire a mia volta, che *i tossici dell'aspergillus varians hanno ogni rapporto coi composti fenolici* (1). Mi limito per ora a rilevare l'importanza del fatto e l'ovvia probabilità, che prodotti di ricambio tanto caratteristici non siano senza un significato nelle trasformazioni materiali, onde si origina il veleno.

*
* *

Molto più arduo, allo stato attuale della scienza, riesce il dilucidare il secondo punto del questionario che ci siamo proposti: « *che cosa specificamente rappresentino le dette sostanze fenoliche e probabili derivati in rapporto alla genesi della pellagra* ».

Oggi nella pellagra notiamo ancora lo stesso confusionismo, se non maggiore, che esisteva

(1) Da parecchi anni feci riprendere nei nostri laboratori le indagini sistematiche sugli ifomiceti parassiti del mais. Rimando per ora ad una pubblicazione del dott. Tiraboschi. (Annali di Botanica del prof. Pirotta. Anno II, Fasc. I). In essa fra l'altro si fa parola dell'aspergillus varians e di mie esperienze tossicologiche fatte su questo ifomiceta fin da due anni fa. Le ricerche mie e dei miei collaboratori proseguono: ma il piano prestabilito non mi permette di progredire tanto veloce nelle deduzioni sull'importanza che le varie muffe, ancorchè tossiche, possano avere dal lato pratico.

per le malattie tifose, carbonchiose, difteriche, malaria, tubercolosi ecc., prima che fossero battezzate in rapporto al relativo nesso causale riconosciuto come tipico. Ma il battesimo fatto alla stregua dell'indagine scientifica non vale mica a togliere le comunanze di sintomi con altre malattie analoghe nei riguardi clinici. E qui, fino ad un certo punto, l'accordo fra clinica e laboratorio viene a convenzionalizzarsi. Prendiamo il caso del tifo addominale: noi diamo questo nome a quell'entità morbosa che è sostenuta dal bacillo d'Eberth, prescindendo da ogni variabilità nella sintomatologia.

Accanto però a queste forme diagnosticabili, come tifo genuino, se ne osservano molte altre pure ovvie ad occorrere in pratica e facili a scambiarsi o confondersi colle prime, eppure sostenute da altro agente che non è il bacillo eberthiano.

Così vi sono i paratifi, le coli-infezioni, certi processi dissenterici, ecc. Dicasi altrettanto delle varie forme pseudotubercolari rispetto alla tubercolosi genuina, delle pseudodifteriche e pseudomalariche rispetto alla vera difterite e malaria, ecc. Il lavoro razionale e praticamente proficuo, in cui clinica e laboratorio devono procedere concordi, consiste adunque nel sceverare i varî casi, raggruppandoli in base al vario nesso etiologico rispettivo. Questo lavoro per la pellagra è lungi dall'essere fatto e crea maggiori difficoltà la circostanza, che qui si tratta di

un' intossicazione anzichè di un processo infettivo, dove il reperto preciso di un germe incriminabile nell'ambiente organico minacciato costituirebbe un criterio di prim' ordine per formulare un giudizio. Finora si sono posti e con successo in evidenza alcuni danni derivanti dal consumo del mais, i quali per sè stessi non possono in altro modo qualificarsi che col nome di *specifici:* ma in qual misura la nozione risponda al fatto pratico dell'endemia pellagrosa ancora è da stabilirsi. E pertanto è indispensabile, che, dopo avere ben studiate le cause di danno, che possono provenire dall'uso del granturco, sia come cibo specificamente alterato, sia come sostanza alimentare, che taluno reputi impropria, si compia un lavoro di cernita, onde risulti in quali rapporti stíano le diverse cause messe in rilievo dal laboratorio colle forme, che in pratica si sogliono osservare. Ed allora, come dal multiforme gruppo di malattie, che, per comunanza di taluni sintomi, un giorno passavano col nome generico di *carbonchio,* venne, in base al diverso nesso etiologico, a separarsi il carbonchio ematico dal sintomatico e dall'edema maligno; e viceversa molte forme, che per la disparità di sintomi, si annunziavano con nomi differenti (pustola maligna, mal del sangue, mal della milza ecc.) dovettero, per la riconosciuta unicità della causa specifica, ricevere l' unica denominazione di carbonchio ematico; così una più rigorosa in-

dagine sulla corrispondenza fra le varie cause morbigene inerenti all'uso del mais ed i fatti, che in pratica occorrono, varrà a meglio disciplinare la nomenclatura e stabilire quali casi più razionalmente meritino il nome di pellagra genuina e come possano elencarsi altre forme, che con quella senza dubbio hanno soltanto una comunanza di sintomi.

Gli è in vista di queste considerazioni, che ritengo prematuro l'esclusivismo del Di Pietro, il quale, tanto nel giudizio di mais pellagrogeno, come in quello diagnostico di pellagra (saggi sulle urine) propende a ritenere la reazione fenolica penicillare come un indizio dimostrativo specifico: senza dubbio la cosa, dal punto di vista mio personale, mi lusingherebbe e d'altra parte al reperto non manca un valore positivo, come dimostra la sostanza che fin da dieci anni fa isolai allo stato di purezza. Ma il grave inconveniente pratico di accogliere una tal proposizione si rivela sopratutto ove le si voglia dare un carattere inverso, cioè che « l'*assenza della reazione fenolica basta per far escludere la pellagra nell'uomo e l'avaria nel mais* ». Ciò non si potrebbe sostenere neppure se da tutti e definitivamente fosse accolta l'interpretazione della pellagra come un avvelenamento penicillare: infatti, dal punto di vista della vigilanza igienica, se così si procedesse, per evitare un danno specifico, si passerebbe sopra a non minori danni volgari, come pos-

sono prodursi in molti casi, in cui il mais può essere profondamente guasto e tossico, senza presentare traccia di reazione fenolica. Così almeno si deve ammettere.

Allo stato attuale si può dei veleni penicillari e congeneri discorrere come d'una causa indiziaria. Senza dubbio essi hanno la potenzialità di produrre un male specifico: lo dicono le prove di laboratorio; ma se solo in questo o consimili mali consista la pellagra, ciò deve ancora assodarsi con altra discussione: sopratutto è da studiarsi la frequenza con cui in pratica un tale avvelenamento possa effettuarsi, giacchè finora nei rapporti pratici non esistono che indizî vaghi ed indiretti.

Concludendo, il reperto dei fenoli come indizio diagnostico della pellagra o di mais pellagrogeno è del tutto subordinato al destino, che avrà l'altra proposizione relativa al valore etiologico dei tossici penicillari in genere. E di più, il detto reperto, dal punto di vista della vigilanza igienica, avrà valore soltanto nel caso di esito positivo.

* * *

Viene infine il terzo punto del questionario: « *quale significato abbia la reazione fenolica nel giudizio delle alterazioni del mais* ».

E qui non esito ad affermare, che il saggio ha un reale valore diagnostico degno di riguardo, per l'attendibilità, che gli deriva dalle salde

basi scientifiche, su cui già fin d'ora poggia. Infatti da una parte è isolato ed abbastanza definito il prodotto di ricambio, che dà la reazione colorata; dall'altra esistono ripetute e concordi ricerche dimostranti, che il mais sano va esente da simile fenomeno; in terzo luogo la ricerca ebbe il suo battesimo in varie contingenze pratiche col suffragio di parecchi ricercatori. Sicchè non solo io sono condotto a mantenere, ma a convalidare sempre più i criterî, che al riguardo espressi fin dal 1896, quando per la prima volta resi nota la detta caratteristica reazione. Scrivevo allora, che il saggio può sopratutto venire in acconcio nel giudizio igienico sui prodotti di macinazione del granturco, dove mancano i vistosi caratteri, che rendono facile e rapido il riconoscimento delle cariossidi invase da parassiti. E dicevo fra l'altro: «..... un nuovo criterio viene pertanto suggerito dalle mie ricerche: siccome nella massima parte dei casi il parassitismo del mais è dovuto al penicillo glauco (sia da solo, sia accompagnato da altri germi) così è ovvio negli estratti di mais guasto ottenere la reazione fenolica e siccome all'uopo noi possediamo un reattivo sensibilissimo, qual è il percloruro di ferro, così il metodo d' indagine acquista valore di praticità. La bontà del metodo è, ben si comprende, subordinata alla probabilità, che all'alterazione del mais partecipi il parassitismo del penicillium glaucum. Così è infatti nella

grande maggioranza dei casi. *Se ciò non fosse, supposto, che nessun altro germe goda della proprietà del penicillo glauco, si potrebbe avere mais guasto, senza reazione fenolica...* »

Ora, dopo circa un decennio di indagini e di riprove fatte anche da altri, io non solo non ho da modificare simile concetto, ma devo dire, che esso appare oggi assai più fondato di quanto mi potessi attendere. E meritano fra tutti speciale ricordo i contributi di Antonini, di Di Pietro, di Rizzi e quello recentissimo di Peglion, che studiò le castagne invase da penicillo glauco. Per conto mio, fin dal 1902 ho ripreso le ricerche avendo particolare riguardo all'indirizzo pratico: il numero di campioni di mais esaminati e provenienti dalle località più infeste da pellagra è di oltre 200. Ogni saggio veniva controllato con cura in base agli altri criterî batteriologici e clinici. I risultati furono dimostrativi in sommo grado. Quello, che sopratutto merita menzione si è l'*erroneità del supposto, che nessun altro germe goda delle proprietà del penicillo glauco*». Infatti parecchi altri ifomiceti parassiti abbastanza comuni del mais dànno estratti che reagiscono tipicamente ed intensissimamente col percloruro di ferro. Cito in prima linea gli aspergilli flavescens e varians, pei quali si possono ottenere colorazioni intensissime anche nel mais scoperto dalla loro patina vegetativa.

Altrove ed insieme ai miei collaboratori illu-

strerò di proposito lo studio fatto e che tutt'ora continuo nell'intento di ricuperare sempre migliori nozioni nei varî indirizzi.

Basti per ora l'aver accennato in sintesi un risultato, che conforta rigorosamente alla fiducia nella reazione fenolica, quale indizio del parassitismo di varî ifomiceti comunissimi nel mais e nei suoi prodotti.

Tuttavia, al riguardo, non paiano superflue alcune osservazioni moderatrici. Anzitutto è comune a tutte le ricerche d'indole pratica il subordinarle ad un criterio di quantità. A rigore di termini è difficile trovare partite di mais, che, anche a breve distanza del periodo di raccolta, non presentino qualche traccia di parassitismo da ifomiceti, massime di quelli a cui qui ci riferiamo. Orbene basta agire su una quantità abbastanza grande di materiale, per approdare ad un risultato positivo nel saggio col percloruro. Il che senza dubbio non autorizza a condannare la merce. Sta quindi al raziocinio del perito un congruo giudizio sull'esito ottenuto, avendo riguardo ai varî elementi, di cui nel caso pratico esso dispone.

In secondo luogo ci troviamo qui di fronte ad uno dei tanti saggi rivelatori, che hanno sovratutto importanza quando riescono positivi: un reperto negativo, a rigore di termini ha significato secondario: in ogni modo non autorizza per sè solo ad un giudizio favorevole. In realtà, in pratica, sono da considerarsi come

ben rari i casi di mais spontaneamente alterato, senza reazione fenolica, appunto perchè è troppo ovvio in detto cereale il parassitismo delle diffusissime specie ifomicetiche, nei cui prodotti di ricambio è da rintracciarsi la causa di detta reazione. Ma siccome non tutti i parassiti vegetali sono capaci di consimili prodotti (o almeno ciò per ora non risulta) e d'altra parte si può sperimentalmente ottenere un mais profondamente alterato, senza che perciò si abbia a riscontrare il detto fenomeno reattivo (putrefazione promossa dagli schizomiceti) così non si può a rigore di termini sostenere, che sia sano ogni mais, i cui estratti non diano la reazione fenolica. Sempre però dal punto di vista della vigilanza igienica in generale, l'assenza di questa reazione ha relativamente un significato propizio, come dimostrano le numerose ricerche fatte con pratico indirizzo e sottoposte a controllo in base agli altri criterî di indagine batteriologica e chimica.

*
* *

Riepilogando i concetti, che emergono dagli studî fatti e dal dibattito scientifico sulla tesi, che è oggetto di queste pagine, parmi si debba conchiudere:

1. Che la reazione fenolica è senza dubbio in rapporto con prodotti di ricambio specifici, di taluni parassiti invasori del mais. Essa è indice di tossicità sia in senso diretto, cioè in

rapporto alle sostanze, da cui deriva, sia in senso indiretto, essendo probabile, che dette sostanze formino, con altri gruppi organici, corpi più complessi e più tossici.

2. Che la reazione fenolica non può prendersi come indizio di mais pellagrogeno: per lo meno è prematuro l'accordarle un tale valore, finchè non sia bene stabilito che i tossici con cui dessa sta in rapporto, cagionano in pratica forme morbose con tale frequenza ed entità da giustificarsi il nome di tossici pellagrogeni.

3. Che, in ogni modo, la reazione fenolica è un buon indice delle alterazioni parassitarie ovvie ad occorrere nel granoturco, indice sovratutto prezioso per le indagini sulle farine, in cui i comuni metodi si rivelano deficienti o poco solleciti.